Lane Medical Library
1928
STANFORD UNIVERSITY LIBRARY JUN 20 1930

Beitrag zur Kenntnis der Zusammensetzung des Fettes von Fasciola hepatica

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Hohen Medizinischen Fakultät der
Friedrich - Alexanders - Universität
Erlangen

vorgelegt von

Dr. phil. Theodor Frhr. v. Brand
Ortenberg

Tag der mündlichen Prüfung: 24. Juli 1928

Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin
1928

Dekan: Geheimrat Professor Dr. Specht
Referent: Professor Dr. Weinland

Sonderabdruck aus
„Zeitschrift für vergleichende Physiologie“
Band 8, Heft 3/4

Anläßlich einer Untersuchung über den Stoffwechsel von *Fasciola hepatica* fanden Weinland und v. Brand (1924, 1926), daß sich im Außenwasser der Tiere — sie wurden bei Körpertemperatur in Ringerlösung für Säugetierdarm gehalten — nach einigen Stunden Versuchsdauer nichtflüchtige, ätherlösliche Substanzen nachweisen lassen. Es wurde ferner festgestellt, daß das in den Tieren morphologisch nachweisbare Fett zum größten Teil im Lumen der Exkretionsgefäße bzw. in deren Wandung und in den Zellen, die den Kanälen unmittelbar benachbart sind, gelagert ist. Nur ein kleiner Teil des Fettes war in der Umgegend der Hodenfollikel nachzuweisen. Es stimmten also die chemische und die morphologische Untersuchung zusammen, zu dem Schlusse zwingend, daß der Leberegel ätherlösliche Substanzen ausscheidet, als deren wesentlichste Komponente eine oder mehrere höhere Fettsäuren anzusehen sind. Eine nähere Analyse des Auscheidungsfettes war leider aus Materialmangel nicht möglich. Eine Elementaranalyse ergab Werte, die in der Nähe der Laurin- und Caprinsäure lagen. Die Verseifungszahl war für die genannten Säuren viel zu niedrig, so daß kein Schluß auf die ausgeschiedenen Fettsäuren gezogen wurde. Die Ausscheidung niederer, flüchtiger Fettsäuren tritt bei *Fasciola hepatica* ganz zurück und hält sich in sehr geringen Grenzen, ganz im Gegensatz zu dem Nematoden *Ascaris*, bei dem als ätherlösliche Exkrete durch Weinland (1901, 1904) und seine Nachfolger (vor allem Flury 1912) eine Reihe niederer, flüchtiger Fettsäuren in großer Menge gefunden wurden. Als Muttersubstanz dieses Anteils der ausgeschiedenen Stoffe konnte in beiden Fällen das Glykogen, das sowohl bei *Ascaris* wie bei *Fasciola* in reichlicher Menge vorkommt, nachgewiesen werden. Bei beiden Tierarten verläuft der Kohlehydratstoffwechsel in der Form einer Fettsäuregärung, da den Tieren kein elementarer Sauerstoff zur Verfügung steht, der oxydativen Abbau des Zuckers gestatten würde. Die eigenartige Rolle des Fettes im Stoffwechsel dieser Parasiten, das also nicht wie bei Tieren, denen Sauer-

stoff zur Verfügung steht, als Reservestoff anzusehen ist, ließ es von Interesse erscheinen, dieses näher zu untersuchen. Leider war es mir nicht möglich, reines Exkretionsfett in so genügender Menge zu erhalten, daß eine Analyse möglich gewesen wäre; ich mußte mich auf die Untersuchung des aus dem Tierkörper gewonnenen Ätherextraktes beschränken.

Ausgangsmaterial der Untersuchung war Trockensubstanz von Fasciolen, die im Jahre 1926 gesammelt waren. Sie entsprach etwa 3 000 Tieren im Lebendgewicht von etwa 280—300 g. Die Tiere entstammten Schafslebern, die aus dem Nürnberger Schlachthof bezogen wurden. Sie wurden in lebendem Zustand den Lebern entnommen und nach Waschen in Ringerlösung und kurzem Abtrocknen auf Filtrierpapier auf dem Wasserbade getrocknet. Wie Weinland und v. Brand (1926) früher gezeigt haben, lassen sich in stoffwechselphysiologischer Hinsicht 4 Fasciolengruppen unterscheiden: 1. solche mit Darminhalt aus dem Ductus choledochus, cysticus und der Gallenblase, 2. darmleere aus denselben Orten, 3. darmvolle aus den Gallengängen im Innern der Leber und endlich 4. solche ohne Darminhalt ebendaher. Diese Trennung in Gruppen, die sich bei den Stoffwechseluntersuchungen als sehr fruchtbar erwies, sie wurden nämlich als Stadien in einem Ernährungszyklus gedeutet, wurde hier nicht durchgeführt. Sie dürfte auch für das vorliegende Problem von untergeordneter Bedeutung sein, wenn man auch freilich nicht ohne weiteres wird sagen dürfen, daß die den Ätherextrakt zusammensetzenden Komponenten bei den verschiedenen Gruppen in den gleichen Mengenverhältnissen vorzukommen brauchen.

Die trocken aufbewahrte Substanz wurde zunächst bei 100° C bis zur Gewichtskonstanz weiter getrocknet. Ich erhielt auf diese Weise 60,25 g Trockensubstanz. Sie wurde in einer Mühle zu möglichst feinem Staube verrieben und dann in Soxhletschen Extraktionsapparaten 3 Tage lang mit Äther ausgezogen. Die ätherischen Extrakte wurden vereinigt. Sie zeigten eine staubfeine Trübung, die jedes Filter passierte und die deshalb im Rohätherextrakt belassen wurde. Der Äther wurde verjagt, der braun gefärbte Rückstand 12 Stunden lang bei 60° C getrocknet und dann gewogen. Das Gewicht betrug 7,3725 g. Das entspricht 12,24% der Trockensubstanz. Weinland und v. Brand fanden als Mittelwert des nach der Soxhletschen Methode bestimmten Fettes 10,32%, mit den Extremen 18,56% und 7,89%. In diesem Rohfett wurden damals einige Konstanten bestimmt; die Verseifungszahl betrug 180,8 bzw. 186,9, die Jodzahl 55,0. Auf eine Wiederholung dieser Bestimmungen wurde aus Materialersparnisgründen verzichtet.

Der Ätherextrakt wurde mit Aceton aufgenommen um die Phosphatide und Lecithine abzutrennen. Es zeigte sich, daß der größere Teil des Ätherextraktes acetonunlöslich war. Wie gleich hier bemerkt sein soll,

handelt es sich aber bei dem Acetonunlöslichen nicht nur um die genannten Stoffgruppen. Es wurde vom Acetonunlöslichen abfiltriert, das Aceton verjagt und das acetonlösliche Fett bei 60° C getrocknet. Ich erhielt so eine Fraktion, die 3,0645 g wog, was 41,57% des Gesamtätherextraktes entspricht.

A. Weiterbehandlung des acetonlöslichen Fettanteils.

Das acetonlösliche Fett wurde in 30 ccm erwärmten, fuselfreiem 96%igen Alkohol gelöst, mit 40 ccm einer 3%igen alkoholischen Kalilauge versetzt und auf dem Wasserbade 1 Stunde lang am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt. Hierauf wurde, um den Alkohol zu entfernen, auf dem Wasserbad bis zur Trockene eingedampft. Die Seife wurde mit Wasser aufgenommen, die trübe Lösung quantitativ in einen Scheidetrichter übergeführt und 5 mal mit reichlich Äther geschüttelt. Die vereinigten Ätherportionen wurden 3 mal mit je 20 ccm Wasser gewaschen, die Waschwässer kamen wieder zur Seifenlösung. Der Äther wurde nun zum größten Teil verjagt, der übrigbleibende Rest bei Zimmertemperatur dem Verdunsten überlassen. Es kristallisierte dabei reichlich eine ätherlösliche, unverseifbare Substanz aus. Nach Trocknen bei 100° C wog die Substanz 1,4186 g, was 19,24% des Gesamtätherextraktes entspricht. Sie war zunächst noch leicht gelb gefärbt, weshalb sie nochmals mit Äther aufgenommen, mit Tierkohle versetzt und erwärmt wurde. Nach Filtrieren und Verjagen des Äthers war sie rein weiß. Die Substanz wurde nochmals bei 100° C getrocknet und dann eine Schmelzpunktbestimmung vorgenommen. Dieser betrug 140,7° C. Eine kleinere Portion wurde nun in heißem 90%igem Alkohol gelöst. Nach dem Erkalten kristallisierte die Substanz in den für *Cholesterin* charakteristischen, rhombischen Platten aus.

Es wurden nun einige Farbenreaktionen ausgeführt: 1. die Salkowskysche Reaktion: Ein kleiner Teil der Substanz wurde in Chloroform gelöst und mit der gleichen Menge konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Das Chloroform färbte sich purpurrot; die Schwefelsäure zeigte grünliche Fluoreszenz. 2. Es wurde auf einem Tiegeldeckel zu einigen Kristallen der Substanz Schwefelsäure und Jodlösung gebracht. Die Kristalle nahmen grüne und blaue Farbentöne an. 3. Die Neubergsche Probe: Einer kleinen in Alkohol gelösten Portion wurde ein Kriställchen Rhamnose zugefügt. Nach Unterschichtung mit konzentrierter Schwefelsäure bildete sich an der Berührungsstelle ein roter Ring. Nach durchschütteln färbte sich die ganze Flüssigkeit rot. 4. Die Liebermann-Burchardsche Probe: Etwas in Chloroform gelöste Substanz wurde mit einigen Tropfen Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Die Lösung färbte sich zunächst rosarot um dann in blau und schließlich in grün umzuschlagen.

Alle vier Reaktionen waren also positiv. Dieses Verhalten sprach dafür, daß es sich um ein Sterin handle; die Kristallisationsform, sowie die Farbenreaktionen dafür, daß echtes Cholesterin vorliege. Dazu stimmte aber der Schmelzpunkt nicht recht, denn Cholesterin schmilzt bei 148,5° C. Es galt zu entscheiden, ob die Substanz nur verunreinigt war, oder ob eine vom gewöhnlichen Cholesterin verschiedene Sterinart vorliegt. Von solchen sind ja bei den niederen Tieren verschiedene beschrieben worden, von Henze (1904, 1908) das aus *Suberites domuncula* gewonnene Spongosterin, von Dorée (1909) das Clionasterin aus *Cliona celata*, von Menozzi und Moreschi (1908) das aus Seidenraupen isolierte Bombicesterin, so das Stellasterin aus Echinodermen (Kossel und Edlbacher 1915), und endlich das Asteriasterin aus *Asterias forbesi* (Page 1923). Es mußte also das Sterin weiter gereinigt werden.

Zu diesem Zwecke wurde zunächst das Acetat dargestellt, indem die Substanz mit Essigsäureanhydrid zum Kochen erhitzt wurde. Das überschüssige Essigsäureanhydrid wurde auf dem Wasserbade verjagt. Hierauf wurde das Acetat 3 mal aus absolutem Alkohol umkristallisiert. Der Schmelzpunkt des Acetats lag scharf bei 114,2° C, jener des Cholesterins bei 114° C. Aus dem Acetat wurde nun wieder das freie Cholesterin dargestellt, indem es zunächst mit alkoholischer Kalilauge verseift wurde. Nach Eindampfen und Zugabe von Wasser wurde das freie Sterin durch Ausäthern gewonnen. Nach Verjagen des Äthers und Trocknen bei 100° C wurde der Schmelzpunkt erneut bestimmt. Er lag nun bei 146,4° C, also relativ nahe bei dem des echten Cholesterins. *Ich sehe mich demzufolge nicht veranlaßt, für den Leberegel eine eigene Sterinart anzunehmen, sondern vermute, daß es sich bei ihm um echtes Cholesterin handelt.* Anhaltspunkte für das Vorkommen anderer unverseifbarer Körper in irgendwie nennenswerter Menge ergaben sich nicht.

Die Seifenlösung, die nach Extraktion des ätherlöslichen Unverseifbaren zurückblieb, wurde zum Zwecke des Freimachens der Fettsäuren mit 20% Salzsäure versetzt und darauf wiederholt mit Äther geschüttelt. Die vereinigten Äthermengen wurden 3 mal mit je 20 ccm destilliertem Wasser geschüttelt. Diese Waschwässer kamen wieder in den Scheidetrichter zur sauren Lösung. Der Äther wurde nun verjagt und ich erhielt auf diese Weise die freien Fettsäuren. Nach Trocknen bei 60° C wogen sie 1,2079 g. Es entspricht dies 16,38% des Gesamtätherextraktes. Die Fettsäuren wurden hierauf nach Varrentrapp in gesättigte und ungesättigte getrennt. Zu diesem Zwecke wurden sie in Äther gelöst und mit alkoholischer Bleiacetatlösung gefällt. Die ätherlöslichen Bleisalze der ungesättigten Fettsäuren wurden von den unlöslichen der gesättigten abfiltriert. Beide Fraktionen kamen je in einen Scheidetrichter und wurden zunächst mit Wasser versetzt und hierauf die Bleisalze mit 20%iger Salzsäure zerlegt. Die Fettsäuren wurden wiederum durch Ausschütteln

mit Äther gewonnen, der Äther verjagt und die Säuren nach Trocknen bei 60° C gewogen. Die Fraktion der gesättigten Fettsäuren wog 0,2963 g, was 4,02% des Gesamtätherextraktes ist, jene der ungesättigten Säuren 0,8792 g bzw. 11,93%.

Die Fraktion der gesättigten Fettsäuren wurde folgendermaßen weiterbehandelt: die Säuren wurden bei Zimmertemperatur über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet und hierauf der Schmelzpunkt bestimmt. Er lag bei 60,5° C. Der Schmelzpunkt der Myristinsäure ist 53,8° C, der der Palmitinsäure 62,6°, jener der Stearinsäure 69,2° C. Eine Jodzahlbestimmung ergab, daß 0,1703 g Säure 0,0165 g Jod verbrauchten, die Jodzahl betrug also 9,7. Die Trennung in gesättigte und ungesättigte Säuren war also, wie nicht anders zu erwarten, nicht ganz quantitativ. Es wurde nun aus Aceton umkristallisiert und aus dem Rest der Säuren das Silbersalz dargestellt. Zu diesem Zwecke wurden die Säuren in ammoniakalischem Weingeist gelöst, mit 10%iger alkoholischer, ammoniakalischer Silbernitratlösung versetzt und Wasser zugegeben bis das Silbersalz ausfiel. Der Niederschlag wurde auf einem Filter gesammelt, ausgewaschen und über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur im Vacuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Dann wurde vorsichtig verascht. 0,0766 g Silbersalz ergaben 0,0210 g Silber. Dies entspricht 27,45% Ag. Silbergehalt des Palmitinsauren Silbers 27,59% Ag. *Es scheint also, daß die gefundene gesättigte Säure im wesentlichen aus Palmitinsäure besteht.*

Die Fraktion der ungesättigten Säuren war eine schwach gelblich gefärbte Substanz von öliger Konsistenz, also bei Zimmertemperatur dickflüssig. In einem Teil der Substanz wurde die Hübl'sche Jodzahl bestimmt. 0,3506 g Säure verbrauchten 0,2557 g Jod. Dies entspricht einer Jodzahl von 72,9. Die Jodzahl reiner Ölsäure beträgt 89,9. Ich glaube dazu berechtigt zu sein, *den Hauptteil der Fraktion der in Äther löslichen Bleisalze als Ölsäure anzusprechen.* Daß die Jodzahl nicht die berechnete Höhe erreichte, darf nicht wundernehmen, denn die Trennung der Fettsäuren in gesättigte und ungesättigte nach Varrentrapp (wie auch nach den anderen üblichen Methoden) ist, wie oben erwähnt, keine ganz quantitative. Um eine weitere Reinigung vorzunehmen, etwa durch eine fraktionierte Destillation im Vacuum, erschien die Menge meines Materials als zu gering.

In dem Scheidetrichter, in welchen das verseifte Fasciolenfett in Wasser gelöst gekommen war, blieb nach Wegnahme des ätherlöslichen Unverseifbaren und der Fettsäuren die salzsaure, wässerige Flüssigkeit zurück. Diese wurde mit Kaliumcarbonat bis zur alkalischen Reaktion versetzt, hierauf bei Zimmertemperatur im Vacuum bis zum dicken Sirup eingeengt. Der Sirup wurde mit 30 g trockenem Natriumsulfat verrieben. Es wurde so eine gut extrahierbare, lockere Masse erhalten,

die im Soxhletschen Apparat 6 Stunden lang mit Aceton ausgezogen wurde. Nach Verjagen des Acetons und Trocknen im Vacuum bei Zimmertemperatur über Chlorcalcium blieb eine etwas dickflüssige, leicht gelblich gefärbte Flüssigkeit zurück. Sie wog 0,1414 g, entsprechend 1,92% des Gesamtätherextraktes. Sie war in Alkohol und Wasser löslich, unlöslich in Äther. Eine kleine Portion wurde mit Kaliumbisulfat erhitzt. Es bildeten sich die für Acrolein charakteristischen, äußerst stechend riechenden Dämpfe. Der Rest der Substanz wurde mit etwas Natronlauge versetzt. Zugegebenes Kupfersulfat löste sich mit dunkelblauer Farbe. Daneben war zunächst ein ganz schwacher grünlicher Schimmer zu bemerken, der vielleicht von den gelben Verunreinigungen herrührte, der jedoch, als mehr Kupfersulfat in Lösung ging, nicht mehr zu bemerken war. Beim Erhitzen trat keine Reduktion auf. *Das ganze Verhalten spricht dafür, daß es sich um Glyzerin handelt.* Bezogen auf die gewonnenen Fettsäuren, also auf 1,2079 g, betrug die Glyzerinmenge 11,71%. Wenn man auf Grund der oben mitgeteilten Zahlen annimmt, daß die Palmitin- und die Ölsäure ungefähr im Verhältnis 1 : 3 vorliegen, so wären 11,13% Glyzerin nötig um die Säuren vollständig mit Glyzerin zu verbinden. Daß ich etwas mehr Glyzerin als berechnet vorfand, dürfte entweder auf etwaigen Verunreinigungen des von mir isolierten Produktes beruhen oder aber auf dem Vorhandensein niederer Säuren, deren Vorkommen ich nicht näher untersucht habe, deren Vorhandensein ich aber für durchaus möglich halte. Um weitere Glyzerinbestimmungen, etwa mit der Oxydationsmethode mittels Permanganat vorzunehmen, war kein Material mehr vorhanden. *Jedenfalls ist mit Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß entweder die ganzen oder doch wenigstens der größte Teil der gefundenen Fettsäuren als Glyzeride vorgelegen waren.* Auf das Cholesterin zurückzugreifen, habe ich keine Veranlassung, wie dies Faust und Tallqvist (1907) bei *Bothriocephalus latus* taten, bei dem sie kein Glyzerin, wohl aber reichlich Cholesterin fanden. Das von Flury (1912) bei *Ascaris* gefundene Glyzerin im Betrag von 2,40% gegenüber 65,03% Fettsäuren reicht gleichfalls nicht aus, so daß er auch bei *Ascaris* für einen Teil der Fettsäuren an eine Verbindung mit dem von ihm im unverseifbaren Anteil gefundenen Askarylalkohol denkt.

B. Weiterbehandlung des acetonunlöslichen Fettanteiles.

Der acetonunlösliche Anteil des Gesamtätherextraktes wog nach dem Abfiltrieren der acetonlöslichen Fraktion und Trocknen bei 60° C 4,3055 g, dies entspricht 58,40% des Gesamtätherextraktes. Bei erneutem Aufnehmen mit Äther zeigte es sich, daß sich nun die Löslichkeitsverhältnisse wesentlich verändert hatten. War vor der Abscheidung des acetonlöslichen Fettes der Gesamtätherextrakt bis auf die oben erwähnte staubfeine Trübung völlig ätherlöslich, so war nunmehr ein großer Teil des

Acetonunlöslichen plötzlich nicht mehr in Äther löslich. Es wurde deshalb der ätherlösliche Teil des Acetonunlöslichen abfiltriert, der Äther verjagt und nach Trocknen bei 60° C gewogen. Die Fraktion hatte ein Gewicht von 2,2468 g oder 30,48% des Gesamtätherextraktes. Sie dürfte nach der Darstellungsweise ein, wenn auch keineswegs reines *Lecithin- und Phosphatidgemisch* darstellen. Herr Dr. F. Holtz-Göttingen hatte die Freundlichkeit, die Substanz auf ihren Phosphorgehalt hin zu untersuchen. Nach Trocknen bei 125° über P_2O_5 im Vacuum wurde eine 1,3066%ige Lösung in Chloroform dargestellt und diese noch auf 1:10 verdünnt. Es wurden mehrere Doppelbestimmungen in 1 und 2 ccm dieser Lösung vorgenommen, indem sie mit einem Säuregemisch verascht, mit Molybdänreagens gefällt und der entstehende Phosphormolybdänniederschlag gewogen wurde. In 1 ccm der 0,13066%igen Lösung fanden sich 35,6 γ Phosphor, es entspricht dies einem Phosphorgehalt von 2,73%.

Der ätherunlösliche Anteil des acetonunlöslichen Anteils betrug 27,92% des Rohätherextraktes. Es zeigte sich, daß er langsam in kaltem, schneller in warmem Wasser löslich war. Die etwas trübe, braungefärbte wässerige Lösung schäumte beim schütteln. Sie wurde in einen Scheidetrichter gebracht und mit 20%iger Salzsäure angesäuert. Hierauf wurde Äther zugegeben und geschüttelt. Es ergab sich, daß nun spielend leicht bräunlich gefärbte Substanzen in den Äther übergingen. *Es lag demnach ein großer Teil des Leberegelfettes in Seifenform vor.* Daß die Seife bei der lange dauernden Extraktion im Soxhletschen Apparate gewonnen wurde, ist nicht so sehr verwunderlich, da mit gewöhnlichem, also sicher wasserhaltigem Äther extrahiert wurde und die Ätherlöslichkeit der Seifen offenbar außerdem in dem Lipoidgemenge bedeutend gesteigert war bzw. vielleicht die Seife von diesen gelöst wurde. Vielleicht war die oben erwähnte staubfeine Trübung des Ätherextraktes durch einen Teil der Seife bedingt. Die angesäuerte Lösung wurde wiederholt mit Äther ausgeschüttelt, der Äther 3 mal mit je 20 ccm Wasser gewaschen. Das Waschwasser kam jeweils wieder in den Scheidetrichter zurück. Der Äther wurde verjagt und die so gewonnenen Fettsäuren nach Trocknen bei 60° C gewogen. Ich erhielt so 1,0765 g Fettsäuren, entsprechend 14,60% des Gesamtätherextraktes. Diese Fettsäuren lagen also in Seifenform vor. Der Schmelzpunkt der Fettsäuren lag unscharf zwischen 41° und 42° C. Eine Jodzahlbestimmung ergab einen relativ niederen Wert. 0,1141 g Fettsäuren verbrauchten 0,0343 g Jod, es entspricht dies einer Jodzahl von 30,0. Ein anderer Teil der Fettsäuren wurde in Alkohol gelöst, mit Natronlauge genau neutralisiert, dann wurde der Alkohol verjagt. Das fettsaure Natrium wurde mit wenig Wasser aufgenommen und, mit 10% Silbernitrat gefüllt. 0,0873 g Silbersalz ergaben 0,0296 g Silber entsprechend 31,62% Ag. Das mittlere Molekulargewicht beträgt also

ungefähr 234. Die entsprechenden Zahlen einiger Säuren lauten folgendermaßen.

	Molekulargewicht	Schmelzpunkt	Ag-Gehalt des Salzes.
Stearinsäure	284	71,0	27,59%
Palmitinsäure	256	62,0	29,72%
Myristinsäure	228	53,8	32,22%
Laurinsäure	200	43,6	35,16%
Ölsäure	282	—1,0	27,74%

Selbstverständlich ist es mir nicht möglich, die von mir in der Seife gefundenen Säuren mit einer der obengenannten zu identifizieren oder anzunehmen, daß es sich um eine Mischung derselben handelt. Immerhin geben die ermittelten Kennzahlen eine erste Orientierung.

Die salzsaure Lösung, die nach Zerlegung der präformierten Seifen im Scheidetrichter zurückblieb war schwach gelbbraun gefärbt und wies eine größere Zahl ungelöster dunkelbraun gefärbter Partikel auf. Von diesen wurde abfiltriert und das Filtrat auf dem Wasserbade zum Sirup eingeengt. Der Sirup war stark braun gefärbt und mit farblosen Kristallen durchsetzt. Diese stellten teils Würfel dar, teils hatten die Kristalle eine andere Form; wahrscheinlich handelte es sich dabei um Prismen, die sich zu komplizierten bäumchenartigen Komplexen vereinigten. Es wurde die Masse hierauf bei 100° C getrocknet. Das Gewicht der von Kristallen durchsetzten harzartigen Masse betrug 0,2754 g. Es wurde nun verascht. Nach dem Glühen erhielt ich am Boden des Tiegels eine farblose Kruste im Gewicht von 0,0612 g, die beim Erhitzen mit dem Bunsenbrenner relativ leicht zum Schmelzen zu bringen war. Während vor dem Glühen die Kristalle wasserlöslich waren, erwies sich die Masse nunmehr als wasserunlöslich. In verdünnter Salzsäure löste sie sich leicht und vollständig. Nach Verdunsten des salzsauren Wassers im Vacuum bei Zimmertemperatur schieden sich wiederum die würfelförmigen Kristalle aus, während die Prismen nicht mehr aufzufinden waren. Die Kristalle waren an der Luft nicht zerfließlich. Ob es sich dabei um Kochsalzkristalle gehandelt hat, muß dahingestellt bleiben. Das Vorkommen von Natriumseifen wäre selbstverständlich gut denkbar.

C. Betrachtungen über die Zusammensetzung des Leberegelfettes.

Die das Leberegelfett zusammensetzenden Säuren (Palmitin- und Ölsäure, sowie nicht näher bestimmte, offenbar etwas niedrigere Säuren aus den Seifen) weisen, soweit sie erkannt werden konnten, gegenüber anderen tierischen Fetten nichts Abnormes auf. Auffallend sind aber bei Betrachtung des Gesamtfettes zwei Punkte, einmal das *reichliche Seifenvorkommen* und dann der *hohe Cholesteringehalt.*

Was zunächst das Seifenvorkommen betrifft, so findet sich in der Literatur über die Fette der niederen Tiere, soweit ich sie übersehe, nur eine einzige Angabe über einen solchen Fall. Es handelt sich um ein zu

den Coccidien gehöriges Protozoon, *Goussia* (Eimeria) *gadi*. Dessen Fettgehalt beträgt nach Panzer (1913) 3,55% der frischen, 21,97% der Trockensubstanz. Auf Fettsäuren, die zu Seifen gebunden waren, entfiel ein Betrag von 0,39% der frischen bzw. 2,18% der Trockensubstanz. Die Jodzahl der zu Seifen gebundenen Fettsäuren war 48,1, während die Jodzahl des Gesamtfettes 100,5 betrug. Bei einem niederen pflanzlichen Organismus, nämlich dem Myxomyceten *Aethalium septicum* fanden Reinke und Rodewald (1881), daß die lufttrockene Substanz 5,33% Calciumverbindungen der höheren Fettsäuren (Öl-, Palmitin- und Stearinsäure) und 0,42% Calciumformat und Calciumacetat gegenüber 4,00% freien oder anderweitig gebundenen Fettsäuren enthielt. Was nun die Wirbeltiere betrifft, so ist das Vorkommen von Seife im Darm bekannt, das Fett wird ja großenteils in Seifenform resorbiert um dann wieder zu Glyzeriden synthetisiert zu werden. Darüber hinaus gibt Hoppe-Seyler (1883) an in der Chylusascitesflüssigkeit vom Menschen 0,235% Seife neben 0,723% Fett gefunden zu haben. Im Blutserum von Rind, Pferd und Hund fand der nämliche Autor 0,05—0,12% Fettsäuren aus Seifen, im Blutserum eines Pneumonikers 0,062% Fettsäuren aus Seifen neben 0,1318% Fett, 0,216% Cholesterin und 0,3506% Lecithin. Auch Faust und Tallqvist (1907) fanden im Blut eines Hundes, der mit Ölsäure gefüttert worden war, reichlich Ölsäure, die nach der Darstellungsweise offenbar als Seife vorgelegen hatte. Im Chylus eines Hundes (gewonnen mittels einer Ductus thoracicus Fistel), der 3 Stunden vor Versuchsbeginn 3 g Bothriocephaluslipoid in 0,5 l Milch erhalten hatte, wiesen dieselben Forscher nach, daß mehr als die Hälfte der resorbierten Fettsubstanzen in Form ihrer Seifen vorlagen. Bei pathologischen Vorgängen beim Menschen kommen fettsaure Salze offenbar öfter vor, so beschreibt Bachstez (1921) fettsauren Kalk als Grundlage einer gewissen Art von Scintillatio corporis vitrei. Jaeckle (1902) fand die zentralen, verkalkten Partien eines Lipoms zusammengesetzt aus 29,50% Kalkseife (Calciumsalze der Öl-, Palmitin- und Stearinsäure), 28,61% Calciumcarbonat, 41,89% tertiäres Calciumphosphat. Zdarek (1908) wies in einer Mammacyste nach, bezogen auf 100 g Inhalt: 38,57 g Fett, unverseifbarer Anteil des Fettes 0,76 g, Fettsäuren aus Seifen 7,52 g; es hatten also etwa 17% des Fettes in Seifenform vorgelegen. Schumm (1906) zeigte, daß Kristalle, die er in einer Cystenflüssigkeit auffand, aus fettsaurem Kalk bestanden. Als Fettsäure konnte mit Sicherheit nur Stearinsäure nachgewiesen werden. Diese Beispiele über das Seifenvorkommen im lebenden Organismus mögen genügen, um zu zeigen, daß es sich beim Leberegel nicht um ein völlig vereinzeltes Auftreten handelt.

Ein zweiter bemerkenswerter Punkt in der Zusammensetzung des Fasciolenfettes ist, wie oben erwähnt, sein hoher Cholesteringehalt. Die unverseifbare Substanz betrug ja 19,24% des Gesamtätherextraktes; ab-

gesehen vielleicht von geringen Verunreinigungen bestand sie ihrer überwältigenden Hauptmasse nach aus Cholesterin. Das ganz allgemeine Vorkommen von Sterinen in den Organismen ist ja eine bekannte Tatsache, in solcher Menge aber kommen sie nicht allzu oft vor. Was die Entoparasiten anbetrifft, so scheint bei ihnen das reichliche Vorkommen unverseifbarer Körper häufig zu sein, wenn auch bisher nur wenig Formen daraufhin näher untersucht wurden. Bei *Goussia gadi* fand Panzer (1913) 35,77% des Fettes an unverseifbarer Substanz, davon lagen als freies Cholesterin vor 2,87%. Das zu Estern gebundene Cholesterin betrug 26,30%, andere nicht näher untersuchte höhere Alkohole machten 6,60% des Fettes aus. Nach den von Faust und Tallqvist (1907) gegebenen Zahlen läßt sich der Cholesteringehalt des Fettes von *Bothriocephalus latus* zu ungefähr 17% berechnen. Anders liegen die Verhältnisse bei dem von Flury (1912) untersuchten Fall von *Ascaris*. Flury fand nämlich kein Cholesterin, sondern einen anderen höheren Alkohol, den er Ascarylalkohol nannte. Er denkt, daß es sich um einen den Wachsalkoholen (Myricylalkohol, Psyllaalkohol) oder der Melissinsäure nahestehenden Körper handelt. Damit sind meines Wissens die in der Literatur vorliegenden quantitativen Angaben über das Vorkommen unverseifbarer Körper bei Parasiten bereits erschöpft. Erwähnt mag noch eine qualitative Angabe sein; Flury (1913) fand nämlich in den Lipoiden der *Trichinella spiralis* einen unverseifbaren Körper, der mit Chloroform und Schwefelsäure Farbenreaktionen gab, die dem Cholesterin ähnelten. Jedoch ist das reichliche Vorkommen unverseifbarer Körper im Fett der Parasiten nicht ohne weiteres als Charakteristikum für diese anzusehen. Was z. B. die tierischen Wachse anbetrifft, die infolge Flurys Entdeckung des Ascarylalkohols erwähnt werden müssen, so ist hier das Vorkommen höherer Alkohole in reichlichster Menge schon längst bekannt. So beträgt, um nur einige Beispiele zu nennen, der Gehalt des Bienenwachses an unverseifbaren Stoffen (Kohlenwasserstoffen und Alkoholen) 52—55% (Benedikt-Ulzer, S. 1076), so besteht der Walrat in erster Linie aus Palmitinsäure-Cetylester (Benedikt-Ulzer), so enthält das sogenannte Wollfett der Schafe außer Cholesterin, Isocholesterin, Cerylalkohol noch etwa 10% Lanolinalkohol, nach anderen Carnaubylalkohol (Benedikt-Ulzer). Pratje (1921) wies im Ätherextrakt von *Noctiluca miliaris* 34,4% Unverseifbares nach. 24,3% des Unverseifbaren oder 6,9% des Gesamtfettes wurde als Cholesterin erkannt. Leider läßt sich über die Bedeutung der Sterine weder bei den freilebenden Tieren noch bei den Parasiten etwas Sicheres aussagen.

Von besonderem Interesse wäre es natürlich zu wissen, welche Komponenten des aus dem Gesamtkörper gewonnenen Ätherextraktes das eigentliche Exkretionsfett darstellen. Sichere Angaben darüber werden natürlich erst dann zu machen sein, wenn einmal das im Außenwasser

von Versuchstieren vorkommende Fett untersucht sein wird. Ohne irgend etwas Sicheres aussagen zu wollen, darf aber vielleicht doch der Gedanke ausgesprochen werden, *daß die vorgefundenen Seifen vielleicht einen Teil des Exkretionsfettes darstellen.* Es wäre denkbar, daß die Wasserlöslichkeit der Seifen ein die Ausscheidung begünstigendes Moment darstellt. Es erscheint aber sehr unwahrscheinlich, daß die Seifen das einzige ausgeschiedene Fett sind, denn die wasserlöslichen Seifen sind mit hoher Wahrscheinlichkeit — für die Kalium- und Natriumsalze der Fettsäuren ist dies bekannt — in Formalin löslich. Und doch kann man, wie dies Weinland und v. Brand (1924) gezeigt haben, auch nach Formalinfixierung mit den üblichen Fettfärbungsmitteln, Sudan III. und Nilblausulfat, im Lumen der Exkretionsgefäße reichlich sich mit diesen Stoffen färbende Tröpfchen nachweisen, so daß also auch die Exkretion eines oder mehrerer anderer den Ätherextrakt des Gesamttieres aufbauenden Substanzen wahrscheinlich ist. Außerdem sind ja auch ohne Fixierung im Lumen der Exkretionsgefäße Fettkügelchen zu sehen, die also keine Seife sein können.

Ausdrücklich hervorgehoben sei noch, daß die von Weinland und v. Brand (1926) mitgeteilten Fettbilanzversuche durch das Auffinden der Seife in keiner Weise berührt werden, denn das Fett wurde in diesen Versuchen bei den Tieren nach der Verseifungsmethode von Kumagava-Suto, im Außenwasser durch Ausschütteln mit Äther nach Ansäuern mit Schwefelsäure gewonnen, so daß also in jedem Falle etwa vorhandene Seife vor der Wägung zerlegt wurde. Störungen infolge etwa mangelhafter Extraktion der Seife oder infolge verschiedenen Seifengehaltes und dadurch bedingten verschiedenen Aschegehaltes in den einzelnen Portionen sind also ausgeschlossen.

Herrn Professor Dr. Weinland danke ich für das Interesse, das er an meiner Arbeit nahm.

Zusammenfassung.

Der Ätherextrakt von *Fasciola hepatica* setzt sich nach meinen Untersuchungen folgendermaßen zusammen (in abgerundeten Prozentzahlen:

Lecithin und andere Phosphatide	30 %
Gesättigte Fettsäuren als Glyzeride vorliegend . .	4 „
Ungesättigte Fettsäuren als Glyzeride vorliegend	12 „
Glyzerin	2 „
Cholesterin	19 „
Fettsäuren in Seifenform vorliegend	15 „
Asche aus der Seife	1 „
Nicht näher charakterisierte Lipoide	17 „

Literatur.

Bachstez, E. (1921): Fettsäurer Kalk als Grundlage einer Art von Scintillatio corporis vitrei (vorl. Mitt.). Wien. med. Wschr. Jg. 71, Nr 24. — **Benedikt-Ulzer** (1908): Analyse der Fette und Wachsarten. Berlin. — **v. Brand, Th.** und **Weinland, E.** (1924): Über tröpfchenförmige Ausscheidungen bei *Fasciola hepatica* (vorl. Mitt.). Z. vergl. Physiol. **2.** — **Dorée** (1909): Biochem. J. **4** (zitiert nach Schmitz, Chemie der Fette in Handb. d. norm. u. path. Physiol. **3,** 2). — **Faust, E. St.** und **Tallqvist, T. W.** (1907): Über die Ursachen der *Bothriocephalus*-Anämie. Arch. exper. Path. **57.** — **Flury, F.** (1912): Zur Chemie und Toxikologie der Ascariden. Ebenda **67.** — (1913): Beiträge zur Chemie und Toxikologie der Trichinen. Ebenda **73.** — **Henze, M.** (1904): Spongosterin, eine cholesterinartige Substanz aus *Suberites domuncula* und seine angebliche Beziehung zum Lipochrom dieses Tieres. Z. physiol. Chem. **41.** — (1908): Über Spongosterin, das Cholesterin aus *Suberites domuncula*. Ebenda **55.** — **Hoppe-Seyler** (1883/84): Über Seifen als Bestandteile des Blutplasmas und des Chylus. Ebenda **8.** — **Jaeckle, H.** (1902): Über die Zusammensetzung des menschlichen Fettes. Ein Beitrag zur Analyse der Fette. Ebenda **36.** — **Kossel, A.** und **Edlbacher, S.** (1915): Beiträge zur chemischen Kenntnis der Echinodermen. Ebenda **94.** — **Menozzi, A.** und **Moreschi, A.** (1908): Studi nel gruppo della colesterina. Atti Accad. naz. Lincei, rediconti 1 u. 2, Sem. (5), **17,** I. (zitiert nach Schmitz, Chemie der Fette in Handb. d. norm. u. path. Physiol. **3,** 2). — **Page, J. H.** (1923): Asteriasterol — a new Sterol from the starfish and the sterols of certains other marine echinoderms. J. of biol. Chem. **57.** — **Panzer, Th.** (1913): Beitrag zur Biochemie der Protozoen. (II. Mitt.) Z. physiol. Chem. **86.** — **Pratje, A.** (1921): Makrochemische, quantitative Bestimmung des Fettes und Cholesterins sowie ihrer Kennzahlen bei *Noctiluca miliaris* Sur. Biol. Zbl. **41.** — **Reinke, J.** und **Rodewald, H.** (1881): Studien über das Protoplasma. Untersuchungen aus d. Botan. Labor. d. Univ. Göttingen H. II. — **Schumm** (1906): Chemische Untersuchung des Inhalts einer Chyluscyste. Z. physiol. Chem. **49.** — **Weinland, E.** (1901): Über Kohlehydratzersetzung ohne Sauerstoffaufnahme bei *Ascaris*, einem tierischen Gärungsprozeß. Z. Biol. **42.** — (1904): Über die von *Ascaris lumbricoides* ausgeschiedenen Fettsäuren. Ebenda **45.** — **Weinland, E.** und **v. Brand** (1926): Beobachtungen an *Fasciola hepatica* (Stoffwechsel und Lebensweise). Z. vergl. Physiol. **4.** — **Zdarek, E.** (1908): Chemische Untersuchung des Inhalts einer Buttercyste. Z. physiol. Chem. **57.**

LEBENSLAUF.

Geboren bin ich am 22. September 1899 zu Ortenberg in Baden. Die Schule besuchte ich teils in München, teils in Nürnberg. Mit Datum vom 15. Juli 1918 erhielt ich das Reifezeugnis des Münchener Realgymnasiums. Vom 15. VII. 1917 bis 27. II. 1919 gehörte ich dem ehem. K. B. II. Schweren Reiter-Regiment an. Von Frühjahr 1919 bis einschließlich Wintersemester 1919/20 studierte ich an der Münchener Technischen Hochschule Landwirtschaft, von Sommersemester 1920 bis einschließlich Wintersemester 1922/23 Naturwissenschaften, speziell Zoologie an der Universität München. Dort promovierte ich am 20. XII. 1922 an der Philosophischen Fakultät II. Sektion. Das Medizinstudium begann ich im Sommersemester 1924 an der Universität Erlangen, die ärztliche Vorprüfung legte ich am Ende des Sommersemesters 1925 ab, die ärztliche Prüfung in der Zeit vom 1. IV. 1928 bis 28. IV. 1928. Seit Frühjahr 1923 bin ich Assistent der vergleichend physiologischen Abteilung des Physiologischen Instituts der Universität Erlangen. Ich bin bayerischer Staatsangehöriger.

Dr. phil. Theodor. Frhr. v. Brand.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.